

• 质量标准 •

高效液相色谱法测定贵州产淫羊藿药材 不同药用部位中淫羊藿苷的含量

徐文芬, 何顺志*, 黄敏, 王悦云
(贵阳中医学院药学系, 贵州 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 通过测定贵州产淫羊藿药材不同药用部位中淫羊藿苷的含量, 为合理开发利用贵州淫羊藿资源提供理论依据。方法: 对不同种类、产地、药用部位的淫羊藿药材样品, 采用 HPLC 法分别测定其淫羊藿苷含量。结果: 16 种贵州产淫羊藿药材因种类、产地、药用部位不同, 其淫羊藿苷含量有较大差异。结论: 贵州产部分淫羊藿的质量符合或超过中国药典(2005 版)标准, 为了淫羊藿资源的可持续利用, 药材生产应以采收地上部分质量为好。

[关键词] 淫羊藿药材; 不同药用部位; 淫羊藿苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)05-0001-03

Determination of Icariin Contents in Different Plant Parts of Epimedium Plants in Guizhou by HPLC

XU Wenfen, HE Shunzhi*, HUANG Min, WANG Yueyun

(Department of Pharmacy, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To determine icariin contents in different plant parts of *Epimedium* plants in Guizhou, and provide a basis for reasonable development of the medicinal material resources. **Methods:** Icariin contents of the samples of different species, different origins and different parts were determined by HPLC. **Results:** Icariin contents of 16 species in Guizhou have big difference. **Conclusion:** Quality of most *Epimedium* herbs conform to standards of China Pharmacopoeia (2005 edition). For development of the medicinal material resources, it is better that the aerial part of *Epimedium* herbs are collected.

[Key words] *Epimedium* Plants; Different plant parts; Icariin; HPLC

淫羊藿来源于小檗科淫羊藿属植物 *Epimedium* L., 是使用悠久的传统中药之一, 也是贵州重要的地道药材, 淫羊藿具有补肾阳, 强筋骨, 助阳益精等功效, 主治阳痿遗精, 筋骨痿软, 风湿痹痛, 麻木拘挛等症。现代临床上还常用于治疗骨质疏松、更年期综

合症、乳房肿块、高血压、冠心病等疾病, 受到国内外广泛关注。目前贵州产淫羊藿多达 15 种以上^[1-8], 其中, 巫山淫羊藿 *E. wushanense*, 箭叶淫羊藿 *E. sagittatum* 为《中国药典》收载品种; 粗毛淫羊藿 *E. acuminatum*, 天平山淫羊藿 *E. myrianthum*, 黔岭淫羊藿 *E. leptorrhizum*, 毡毛淫羊藿 *E. coactum* 为《贵州省中药材、民族药材质量标准》收载品种^[9, 10]。淫羊藿药材是相关医药工业生产重要的原料药材, 以淫羊藿为主药的制剂很多, 如仙灵骨葆胶囊、仙灵骨葆片、骨松葆等。本文采用高效液相色谱法测定了 16 种贵州产淫羊藿药材不同药用部位中淫羊藿苷的含

[收稿日期] 2006-09-04

[基金项目] 贵州省中药现代化项目(黔科合中药专字[2003] 77 号); 省长基金(2004)07 号

[通讯作者] * 何顺志, Tel: (0851) 5653025; E-mail: hesz8899@126.com.

量,旨在为合理开发利用贵州淫羊藿资源,中药材淫羊藿 GAP 基地建设及其相关医药工业生产提供理论依据。

1 仪器和材料

岛津 LC-2010HT 高效液相色谱仪(日本岛津公司);AG135 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司);CSF-1B 超声波清洗仪(上海超声波仪器厂)。

淫羊藿苷对照品(中国药品生物制品检定所 批号:0737-9910)。乙腈为色谱纯,甲醇、乙醇为分析纯,水为重蒸水。

淫羊藿药材实验样品均为贵阳乌当、龙里、雷山、剑河、施秉、江口、万山、梵净山、务川、兴义、荔波、福泉、开阳、德江等地实地采集(花期至果期采集,阴干或晒干),经何顺志教授准确鉴定为:箭叶淫羊藿 *E. sagittatum*, 黔岭淫羊藿 *E. leptorrhizum*, 粗毛淫羊藿 *E. acuminatum*, 天平山淫羊藿 *E. myrianthum*, 巫山淫羊藿 *E. wushanense*, 剑河淫羊藿 *E. jianheense*, 万山淫羊藿 *E. wanshanense*, 时珍淫羊藿 *E. lishihchenii*, 四川淫羊藿 *E. sutchuenense*, 长蕊淫羊藿 *E. dolichostemon*, 毡毛淫羊藿 *E. coactum*, 黔北淫羊藿 *E. boreali-guizhouense*, 小叶淫羊藿 *E. elachyphyllum*, 水城淫羊藿 *E. shuichengense*, 贵州淫羊藿 *E. sagittatum* var. *guizhouense*, 德务淫羊藿 *E. dewuense*。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil(钻石)-C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(28: 72); 检测波长: 270 nm; 柱温: 25 °C; 流速: 1.0 mL·min⁻¹。

2.2 标准曲线的制备 精密吸取淫羊藿苷对照品溶液(0.124 mg·mL⁻¹) 2, 4, 6, 8, 10 mL 分别置于 10

mL 容量瓶中,以甲醇稀释至刻度,摇匀,各取 10 μL 进样,测定峰面积。分别重复进样 3 次,以其峰面积平均值为纵坐标,其对应的对照品溶液浓度为横坐标,进行回归计算,得到淫羊藿苷的回归方程和相关系数为: $Y = -13\,279.049\,9 + 20\,684\,550.4\,X$, $r = 0.999\,7$ 。表明淫羊藿苷在 0.024 8~ 0.124 mg·mL⁻¹ 范围内与峰面积的线性关系良好。

2.3 供试品溶液的制备 取样品粉末(药材阴干后,粉碎过 40 目筛)约 0.2 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加稀乙醇 20 mL,称定重量,超声提取 1 h,静置过夜,再称定重量,用稀乙醇补足损失的重量,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液,即得。

2.4 精密度试验 精密吸取淫羊藿苷对照品溶液(0.124 mg·mL⁻¹),连续进样 6 次,每次 10 μL,测定其精密度,结果得淫羊藿苷的峰面积值的 RSD = 0.18%。

2.5 重复性试验 精密称取同一样品 6 份,按“2.3”项下的方法制备供试品,在上述色谱条件下进行分析测定,结果得该样品中淫羊藿苷含量的 RSD = 2.48%。

2.6 稳定性试验 精密称取同一样品 1 份,按“2.3”项下的方法新制备供试品,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 进行分析测定,结果得淫羊藿苷含量的 RSD = 2.09%,表明供试液在 24 h 内基本稳定。

2.7 回收率试验 精密称取已知含量的同一药材粉末样品(过 40 目筛)共 6 份,每份约 0.1 g,分别精密加入浓度为 0.101 mg·mL⁻¹ 淫羊藿苷对照品溶液 5 mL。按“2.3”项下方法制备。在上述色谱条件下进行分析测定,计算结果得淫羊藿苷平均回收率为 100.15%, RSD 为 2.06%,见表 1。

表 1 淫羊藿药材中淫羊藿苷的回收率试验结果表(n = 6)

| 称样量 (g) | 样品中淫羊藿苷含量 (mg) | 对照品加入量 (mg) | 检出量 (mg) | 回收率 (%) | 平均回收率 (%) | RSD (%) |
|------------|-------------------|----------------|-------------|------------|--------------|------------|
| 0.113 2 | 0.503 7 | 0.505 | 1.000 8 | 98.44 | | |
| 0.113 3 | 0.509 4 | 0.505 | 1.022 6 | 101.62 | | |
| 0.113 0 | 0.508 3 | 0.505 | 1.009 5 | 99.25 | | |
| 0.113 5 | 0.505 9 | 0.505 | 1.020 8 | 101.96 | 100.15 | 2.06 |
| 0.113 5 | 0.506 8 | 0.505 | 1.014 2 | 100.47 | | |
| 0.113 4 | 0.509 9 | 0.505 | 1.010 5 | 99.13 | | |

2.8 测定结果 将采集的淫羊藿药材样品按不同药用部位分别制备供试品溶液,精密吸取对照品溶

液和供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定,结果见表 2。

表 2 16 种贵州产淫羊藿药材不同药用部位中淫羊藿苷含量结果表

| 种名 | 产地 | 平均含量(%) n=3 | | |
|--------|------|-------------|---------|---------|
| | | 叶 | 叶柄、茎 | 根 |
| 箭叶淫羊藿 | 松桃 | 0.57 | — | — |
| 黔岭淫羊藿 | 龙里 | 0 | 0 | 0.063 |
| 黔岭淫羊藿 | 贵阳 | 0 | 0 | 0.018 |
| 黔岭淫羊藿 | 梵净山 | 0 | 0 | 0.046 |
| 粗毛淫羊藿 | 龙里 | 0.27 | 0.001 5 | 0.053 |
| 粗毛淫羊藿 | 贵阳乌当 | 0.36 | 0.004 4 | 0.042 |
| 粗毛淫羊藿 | 梵净山 | 0.47 | 0.011 | 0.067 |
| 粗毛淫羊藿 | 印江 | 0.28 | 0.017 | 0.17 |
| 粗毛淫羊藿 | 紫云 | 0.72 | 0.038 | 0.31 |
| 粗毛淫羊藿 | 贵阳高坡 | 0.53 | 0.033 | 0.29 |
| 粗毛淫羊藿 | 凯里 | 0.66 | 0.047 | 0.16 |
| 粗毛淫羊藿 | 金沙 | 0.07 | 0 | 0.002 3 |
| 粗毛淫羊藿 | 毕节 | 0.41 | 0.012 | 0.36 |
| 粗毛淫羊藿 | 兴义 | 0.68 | 0.071 | 0.31 |
| 粗毛淫羊藿 | 福泉 | 0.56 | 0.046 | 0.18 |
| 粗毛淫羊藿 | 关岭 | 0.18 | 0 | 0.085 |
| 天平山淫羊藿 | 江口 | 2.32 | 0.048 | 0.39 |
| 天平山淫羊藿 | 施秉 | 0.19 | 0.005 2 | 0.029 |
| 巫山淫羊藿 | 雷山 | 0.26 | 0.002 6 | 0.062 |
| 巫山淫羊藿 | 独山 | 0.62 | 0.021 | 0.37 |
| 巫山淫羊藿 | 龙里 | 0.20 | 0.002 1 | 0.053 |
| 剑河淫羊藿 | 剑河 | 1.12 | 0.002 1 | 0.087 |
| 万山淫羊藿 | 万山 | 0.54 | 0.022 | 0.077 |
| 时珍淫羊藿 | 万山 | 0 | 0.003 0 | 0.018 |
| 四川淫羊藿 | 务川 | 0 | 0.005 3 | 0.064 |
| 长蕊淫羊藿 | 务川 | 0.040 | 0 | 0.003 2 |
| 毡毛淫羊藿 | 剑河 | 0.060 | 0.003 0 | 0.041 |
| 黔北淫羊藿 | 沿河 | 0.37 | — | — |
| 小叶淫羊藿 | 松桃 | 0.35 | — | — |
| 水城淫羊藿 | 水城 | 0.27 | — | — |
| 贵州淫羊藿 | 开阳 | 0.24 | 0.002 7 | 0.046 |
| 德务淫羊藿 | 德江 | 0.15 | 0.004 8 | 0.039 |

注:表中“—”表示因未采到样品的原因,无实验数据。

3 讨论

由表 2 可知,贵州产的淫羊藿药材因种类、产地的不同,淫羊藿苷的含量有较大差异,其中天平山淫羊藿、剑河淫羊藿、箭叶淫羊藿、万山淫羊藿、粗毛淫羊藿(部分产地)、巫山淫羊藿(部分产地)的质量符合或超过中国药典(2005 年版)标准,尤其是以江口产的天平山淫羊藿为最好,高于药典标准 2~5 倍。

由表 2 可知,淫羊藿药材各药用部位中淫羊藿苷的含量均为叶>根>茎,所以淫羊藿的药材生产,从资源的保护、合理利用及可持续发展的角度出发,以利用地上部分(去粗梗)为好。

对药典中 HPLC 法测定淫羊藿苷的方法中样品经超声提取后静置过夜,淫羊藿苷提取较为完全;流动相比例改为乙腈:水=28:72,所得的淫羊藿苷主峰与杂质峰分离度较好,测定结果较准确。

通过对贵州产 16 种淫羊藿药材质量进行研究,为贵州淫羊藿资源的可持续发展,淫羊藿 GAP 基地建设及其相关医药工业生产提供了理论依据。

[参考文献]

- [1] 何顺志. 中国淫羊藿属药用植物一新种[J]. 植物资源与环境, 1993, 2(4): 51-53.
- [2] 何顺志, 徐文芬. 贵州淫羊藿属一新种[J]. 云南植物研究, 2003, 25(3): 281-282.
- [3] 何顺志, 张天伦. 贵州淫羊藿属药用植物一新种[J]. 广西植物, 1994, 14(1): 25-26.
- [4] 何顺志, 郭宝林. 贵州淫羊藿(小檗科)一新种[J]. 云南植物研究, 1996, 18(2): 209-210.
- [5] 徐文芬, 何顺志. 中国淫羊藿大花类群的种类与地理分布[J]. 中药材, 2005, 28(4): 267-271.
- [6] 何顺志, 徐文芬, 郭宝林. 中国淫羊藿小花类群的种类与地理分布[J]. 中国药学杂志, 2005, (16): 1217-1220.
- [7] 何顺志, 郭宝林, 王晓春. 箭叶淫羊藿及近缘种的分类研究[J]. 贵州科学, 2003, 21(1): 102-105.
- [8] 何顺志, 郭宝林. 贵州产淫羊藿属质量研究[J]. 药物分析杂志, 1996, 16(5): 291-294.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2000. 267.
- [10] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵州: 贵州科技出版社, 2003. 350.